

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19360

研究課題名（和文）試験管内で探る霊長類社会構造の背景

研究課題名（英文）Primate Social Structure inferred from in vitro molecular analyses

研究代表者

石田 貴文（ISHIDA, TAKAFUMI）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・名誉教授

研究者番号：20184533

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000 円

研究成果の概要（和文）：霊長類の進化の課程でSEMG1のリピート単位の数変動していること、繰り返し単位は配列相同性によってユニットAとユニットBに分けられること、チンパンジーSEMG1の繰り返し単位Aの増大は最近起こったことが示唆された。SEMG2の部分配列を対象にdN/dSを求めたところ、霊長類において睾丸体重比と強い相関を示し、複雄群における精子競争を支持する結果となった。ヒトSEMG1のリピート数多型の系統解析から、変異型のSEMG1は同祖的であり長期間各集団において維持されてきたことが示唆され、SEMG1の多様性（5リピート）は人類の拡散前に誕生し維持されてきた多型であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内では一連の生理反応によって、重合・分解過程に晒されるSEMGタンパク質は、単体で扱うことが不可能であったが、遺伝子塩基配列データをもとにin vitroでタンパク合成ができたことで、機能解析を可能とした。また、本研究で得られた遺伝情報は、霊長類の進化研究に供され、性淘汰・社会の分子的理解に資するものである。

各種霊長類・哺乳類のDNA・細胞のリソース化は、生命科学の研究材料確保のみならず、保全医学の観点からも、貴重な研究資産と期待される。

研究成果の概要（英文）：It was suggested that 1) the number of repeat units in SEMG1 fluctuated during primate evolution, 2) the repeat unit was divided into unit A and unit B according to sequence homology, and 3) the expansion of repeat unit A in chimpanzee SEMG1 occurred recently. dN/dS of partial SEMG2 showing a strong correlation with the testis/body weight ratio in primates supported sperm competition in multi-male groups. Phylogenetic analysis of human SEMG1 repeat number polymorphisms suggests that mutant forms of SEMG1 have been maintained in each population for a long time and that SEMG1 diversity (5 repeats) occurred before the dispersal of modern humans.

研究分野：Biological Anthropology

キーワード：精しょうタンパク 霊長類 社会構造 タンパク合成 性淘汰 機能解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

霊長類の社会は、ペア・単雄群・複雄群・複雄複雌群・単独と多様性に富んでおり、近縁種でも互いに異なる社会構造を提示することもある。社会構造を知るには、現生種の社会を観察により調べるアプローチが主である。一方、生物種の Mating system は遺伝的に決定されているのか？という問いに対する答えは得られていなかった。一昔前、射精後の精液のゲル化の度合いと霊長類の Mating system(社会構造)が関連するという興味深い提示(Dixon & Anderson,2001)があったが、データの評価に恣意的な点があり客観性に欠けているとの指摘もあった。着想は面白いため、単なるメタ分析に終わるのではなく、客観性と定量性を担保した実験系に基づき「霊長類の精液凝固の定量」をおこない、「生殖関連分子と霊長類社会」の関連を評価することが求められていた。

### 2. 研究の目的

客観性と定量性を担保した実験系に基づき「霊長類の精液凝固の定量」をおこない、「生殖関連分子と霊長類社会」を明らかにするのが本研究の第1の目的である。具体的には、精液凝固の担い手である精漿タンパク SMG の遺伝子構造を、異なる社会構造を示す多種の霊長類で決定、試験管内でタンパク合成・凝集をおこない定量化し、社会構造との関連を評価する。その際、複数の社会型を示す種については、遺伝的多様性と社会型の可塑性について、dispersal・婚姻居住パタンの観点から検討し、「遺伝的支配」の有無を検証する。一方、DNAがあれば「個体が存在しなくても」精液凝固の再現が可能で、絶滅種の精液性状も再現でき、化石等に残らない社会構造の再構成ができる可能性を秘めているため、進化生物学的視点からも興味深く、「古生殖学」の展開の足掛かりとすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

過去に収集された、ヒト(30集団)及び各種霊長類(70種)の試料は、組織・細胞・DNAの形で保存されているので、これら既存試料を遺伝子解析・タンパク合成実験に用いた。既存の霊長類試料において、PCR-ダイレクトシーケンス法により各種 SMG1,2 の塩基配列を決定し、得られた塩基配列から淘汰の有無を検証した。また、個体数の多い種に関しては塩基多様度の検討も併せおこなう。ヒトの社会構造に関しては、Dixon & Anderson が Polygyny に分類しているように一言では言えず、多様なパタンの存在を前提にヒト SMG1 のリピート数に焦点を当て各ヒト集団での比較と、その集団の婚姻体系(父方・母方居住婚等)との関連を調べる。これまでの予備的研究により、SMG1, SMG2 遺伝子構造のアウトラインは掴んでいるので、多様な構造に適應できる試験管内合成の手技を検討し、タンパク合成をおこなった。合成したタンパクについて、生体防御、抗ウイルス・微生物の点から in vitro の系で検討した。

### 4. 研究成果

(1) 画一的でなく多様な社会構造をもつことが明らかになっているテナガザル科の3属6種において、精子競争の影響を受けて進化してきたと考えられる霊長類の精しょうタンパク遺伝子 SEMG1,2 の配列を決定し、遺伝子構造と精子競争との関係性を調べた。SEMGタンパク質は60アミノ酸のリピート構造をもっており、霊長類の進化の中でリピート数は多様に進化してきたことが知られている。SEMG1についてはHylobates属においてナンセンス変異が種ごとに見られるものの、リピート構造は3属で一致していたが、SEMG2は属ごとに異なるリピート数をもつことがわかった。

(2) 他の霊長類に関しては、60アミノ酸リピートをコードする180bp領域のNJ樹形図を作成したところ、霊長類の進化の課程でSEMG1のリピート単位の数が変動していることが示された。繰り返し単位は、配列相同性によって2つのグループ、ユニットAとユニットBに分けることができ、ユニットAの数は、種によって大きく異なっていた。ただし、ユニットAは類人猿クラスターと旧世界ザルクラスターに分化していた。類人猿クラスターの中で、チンパンジーの全ての

ユニットAは明確な単一クラスターを形成していることから、チンパンジー-SEMG1の繰り返し単位Aの増大は最近起こったことが示唆された。

(3) HapMap projectのJPT, CHB, CEU, YRIのサンプル(n=193)においてヒトSEMG1のリピート数多型を調べ、系統解析を行った。その結果、変異型のSEMG1は同祖的であり、長期間各集団において維持されてきたことが示唆された。Rs7270676を欠失変異(5リピート)のタグとして、オセアニア系・ヨーロッパ系・アフリカ系集団で検索し、5リピートの頻度分布は概ね5%であった。リピート部分を除いたSEMG1の全長配列を用いた系統樹から、rs7270676-Cを含むハプロタイプは地域集団によらず1つのクレードに集まり、SEMG1の多様性(5リピート)は人類の拡散前に誕生し維持されてきた多型であると考えられた。また、婚姻体系(母方居住婚をする民族と父方居住婚をする民族)の異なるタイの少数民族について、変異型の頻度を比較したところ有意な差は見られなかった。

(4) SEMGsにおけるリピート数の変化による機能的意義は未解明であるため、ヒトを含む類人猿のSEMG1をin vitroで合成し、抗微生物効果の検証のための実験系の確立を試みた。「抗菌」効果は、大腸菌の増殖を指標とし、「抗ウイルス」効果は、DNA型ウイルスとしてヒトヘルペスウイルス4、の感染効率と増殖効率を指標とした。リピートの生理学的意義を探るため、4リピート、5リピート(変異型)、6リピート(野生型)のSEMG1タンパク質を合成した。3種のrecombinant SEMG1に対し、1)何もしない場合、2) Factor XIIIaを添加し凝固させた場合、3) さらにPSAを添加し液化させた場合の抗菌作用を比較したが、明らかな違いは見られなかった。EBウイルス複製に関しては、6リピートSEMG1に第13因子を作用させた後、PSAによる消化をした系でウイルスDNAコピー数が多い傾向にあったが、さらなる検証を要すると思われた。

(5) 霊長類から他の哺乳類への展開をサポートするべく、各種哺乳類のDNA試料の保存を進めた(およそ90種)。細胞試料に関しては、60種について生きた状態で保存・整理した。既存の霊長類細胞を用いたiPS細胞の作成について検討を開始した。また、新たな試料の収集に向けて、国内園館との協力体制を築いた。具体的には、テナガザルについては愛媛県立とベ動物園、哺乳類一般については豊橋総合動植物公園、野生ニホンザルについては(株)地獄谷野猿公苑、本土産大型哺乳類については山ノ内猟友会に協力依頼をした。将来の国際共同研に向けては、テナガザル・マカクについてタイ王国・コンケン大学医学部の協力体制を確認し次世代研究者への橋渡しを可能とした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsudaira, K. and Ishida, T.	4. 巻 127
2. 論文標題 Divergence and introgression in small apes, the genus <i>Hylobates</i> , revealed by reduced representation sequencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heredity	6. 最初と最後の頁 312-322
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41437-021-00452-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松平一成、前田洋一、幣原奈央子、石田貴文	4. 巻 26
2. 論文標題 日本で飼育されているテナガザルのミトコンドリアDNA (cytochrome b遺伝子) による種判定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本野生動物医学会誌	6. 最初と最後の頁 35-42
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsudaira, K., Reichard, U.H., Ishida, T. and Malaivijitnond, S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Introgression and mating patterns between white-handed gibbons ( <i>Hylobates lar</i> ) and pileated gibbons ( <i>Hylobates pileatus</i> ) in a natural hybrid zone	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0264519	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Isshiki, M. and Ishida, T.	4. 巻 168
2. 論文標題 Molecular Evolution of the semenogelin 1 and 2 and mating system in gibbons.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am. J. Phys. Anthrop.	6. 最初と最後の頁 364-369
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ajpa.23748	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
タイ	Khon kaen University			